

兵庫県立神戸高等学校

総合理学科

サイエンス入門

生物実験編

1年9組 番氏名

サイエンス入門 評価・振り返りシート

月 日 1年9組 番 氏名

◎本時の実験・実習項目 ※簡単に内容を書く	
◎本時の自己評価	自己評価 (○をつける)
① 本時の内容に興味・意欲を持って取り組み、積極的に参加したか。	A B C
② 本時の内容をよく理解できたか。	A B C
③ 資料の整理や記入等手際よく行うことができたか。	A B C
◎本時を振り返って (自由記述) *気がついたこと・調べたこと・今後の展望・感想・反省・疑問などを具体的に書く。	

長さを測る 基準 $1\text{ m} \rightarrow 1/10^3 \rightarrow [\quad] \rightarrow 1/10^3 \rightarrow [\quad] \rightarrow 1/10^3 \rightarrow [\quad]$

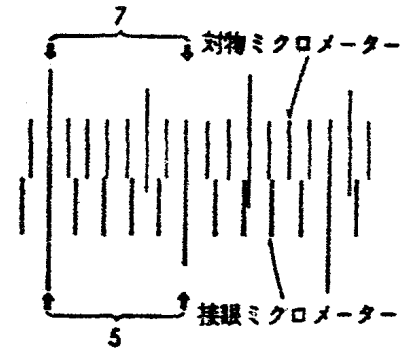
目的 顕微鏡で拡大されたものの大きさを測定する。顕微鏡で観察している構造の長さを測定するには、ミクロメーターを用いる。ミクロメーターの使い方を理解する。細胞を観察し測定する。

準備 顕鏡器具（顕微鏡、柄付き針、ピンセット、スライドガラス、カバーガラス）、対物ミクロメーター、接眼ミクロメーター、オオカナダモの葉、

方法・観察

- ①接眼レンズの上部を回してははずし、接眼ミクロメーターを静かに正しく入れる。
→目盛りの数字が逆に見える場合は、接眼ミクロメーターの表裏を逆にする。
- ②対物ミクロメーターを表裏間違えないようにステージにセットする。その目盛り部分がステージの穴の中心になるように正しくおく。
- ③対物ミクロメーターの位置を調節したり、接眼レンズを回転させたりして、対物ミクロメーターの目盛りと接眼ミクロメーターの目盛りが平行になるようにする。
- ④重なり合った目盛りのうち、両方の目盛りが一致する2点を見つけ、その間にあるそれぞれの目盛りの数を数える。
- ⑤④の目盛りの数をもとに、接眼ミクロメーターの1目盛りの長さ（ μm ）を計算により求める。

(ex) 右図では、矢印の位置で両方の目盛りが一致している。この間にある目盛りの数は、対物ミクロメーターが [7] 目盛り、接眼ミクロメーターが [5] 目盛りである。対物ミクロメーターの1目盛りの長さは [100]（ 1 mm が100等分してある）である。よって、対物ミクロメーター7目盛りは [700] μm であり、この長さの間に接眼ミクロメーターは5目盛りあるのだから、接眼ミクロメーター1目盛りの長さは、[140] = [700] μm とわかる。



接眼ミクロメーター1目盛りの長さ= μm × _____

⑥各倍率ごとに接眼ミクロメーターの1目盛りの長さ（ μm ）を算出する。

接眼レンズの倍率×対物レンズの倍率	一致した目盛りの数	接眼ミクロメーター1目盛りの長さ(μm)
10 × 10	接眼 () 目盛り = 対物 () 目盛り	() μm
10 × 40	接眼 () 目盛り = 対物 () 目盛り	() μm
15 × 10	接眼 () 目盛り = 対物 () 目盛り	() μm
15 × 40	接眼 () 目盛り = 対物 () 目盛り	() μm

観察 オオカナダモの葉

- ①オオカナダモの若い葉を1枚取り、スライドガラスに載せ、水を1~2滴落とし、カバーガラスをかけ、検鏡する。
- ②葉緑体と原形質流動（葉緑体の動き、細胞質が一定の方向に流れるように移動する現象。）に注意して観察する。原形質流動は葉脈付近でよく観察される。
- ③焦点（ピント）を上下にずらしながら観察し、その観察結果からオオカナダモの葉の構造（どのような細胞によってどのように葉の組織が構成されているかなど）を推測し、文章でできるだけ詳しく記述せよ。

③

④葉の細胞の大きさの測定 長径 [] 短径 []

サイエンス入門 評価・振り返りシート

月 日 1年9組 番 氏名

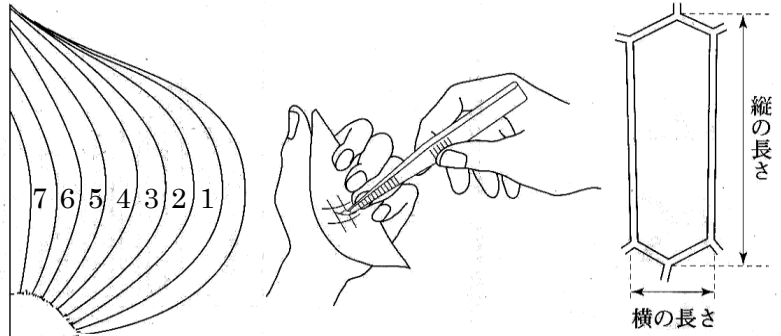
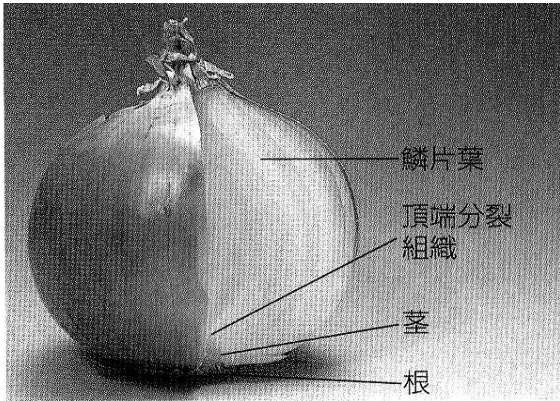
◎本時の実験・実習項目 ※簡単に内容を書く		
◎本時の自己評価	自己評価 (○をつける)	
④ 本時の内容に興味・意欲を持って取り組み、積極的に参加したか。	A	B C
⑤ 本時の内容をよく理解できたか。	A	B C
⑥ 資料の整理や記入等手際よく行うことができたか。	A	B C
◎本時を振り返って (自由記述) *気がついたこと・調べたこと・今後の展望・感想・反省・疑問などを具体的に書く。		

タマネギの細胞の測定とグラフ化とその考察

目的 タマネギの鱗片葉裏面表皮の成長のようすをそれを構成する細胞の大きさを測定することで推察する
 * 細胞の大きさを測ることでわかる鱗片裏面表皮の成長の様子とはどのようなものか考えてから実験すること

準備 顕鏡器具(顕微鏡, 柄付き針, ピンセット, スライドガラス, カバーガラス, メス), 対物マイクロメーター, 接眼マイクロメーター, スポイド, 定規, タマネギ鱗茎

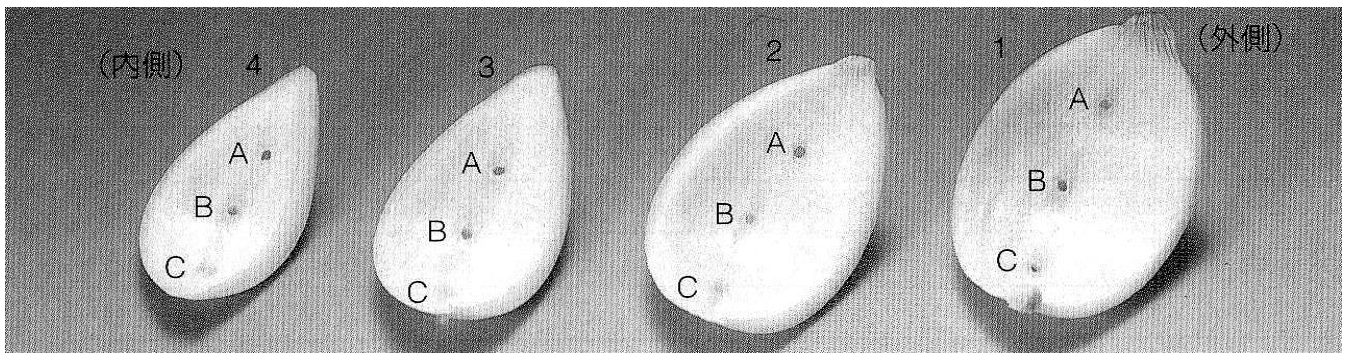
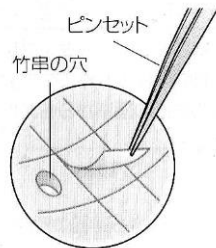
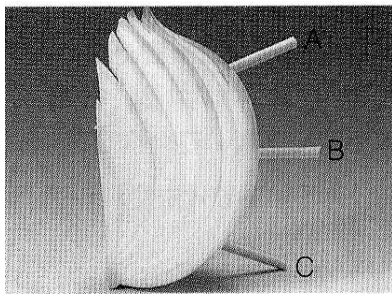
方法 タマネギ鱗片裏面表皮の大きさを定規で測定する。それに対応する裏面表皮細胞の大きさを顕微鏡で測定する。
 裏面表皮は, 鱗片葉のB中央を測定する。
 鱗片裏面表皮の大きさと細胞の大きさをグラフ化してその関係から鱗片裏面表皮(鱗片葉)の成長のようすを推察する。



鱗片葉番号を決め, 鱗片裏面表皮の大きさを測定
 大きさは, 縦横測定する。

*測定する細胞数, どんな細胞を測定するのか?

それぞれの鱗片葉のBの位置の裏面細胞のプレパラートを作成する。
 作成と検鏡, 測定を繰り返す。



鱗片葉番号	鱗片裏面表皮長 ()	鱗片裏面表皮幅 ()	細胞縦の長さ ()平均	細胞横の長さ ()平均
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

()内には単位を記入
 * 基本となる測定値(生データ)は**Lab note**に必ず残しておく。

例) 測定した日付けを記入

使用した顕微鏡番号 倍率 150倍など

1-1 縦38 横16

-2 39 15 など 書き方を工夫する

Lab note



グラフを作成しよう。

グラフ作成において最も重要なことは、実験の目的出会ったことを明らかにできるグラフとなっているか？

目的:タマネギの鱗片葉裏面表皮の成長のようすを推察する→生物の成長する仕組みを考えよう。

*グラフに必要なことは必ず書き込む(縦軸, 横軸, 単位等)

*グラフは何かと何か2つの値の関係を表す(例X軸とY軸ならXとYの関係)。何と何の関係を比較するグラフにするのか考えること？

*グラフはわかりやすいように工夫して書こう。(色を使う等)

グラフを貼ろう

考察 グラフより鱗片裏面表皮はどのように成長するか、グラフからその仕組みを推察せよ。(文章で記述)

サイエンス入門 評価・振り返りシート

月 日 1年9組 番 氏名

◎本時の実験・実習項目 ※簡単に内容を書く		
◎本時の自己評価	自己評価 (○をつける)	
⑦ 本時の内容に興味・意欲を持って取り組み、積極的に参加したか。	A	B C
⑧ 本時の内容をよく理解できたか。	A	B C
⑨ 資料の整理や記入等手際よく行うことができたか。	A	B C
◎本時を振り返って (自由記述) *気がついたこと・調べたこと・今後の展望・感想・反省・疑問などを具体的に書く。		

サイエンス入門 魚類の解剖に備えて 見ておかないと実験はうまくいきません

兵庫教育大学の研究室との共同研究の一環として解剖実験に関して、VTR を作成しています。

●アジの解剖の動画をネット (YouTube) で見よう

解剖の手順を学習してくること。3分以内の短い VTR です。実験を円滑に進めるにはイメージトレーニングが重要です。「どこからハサミを入れてどう切るのか?」「どこまで切るのか?」必ず確認しておきましょう。

アジの解剖 (解剖手順) QR コードを読み取ると見られます。

<https://youtu.be/4Fp31UwM07Q>

パソコンでは上記です。



●イカの解剖の動画をネット (YouTube) で見よう。

ピンセットとハサミをどう使うか、VTR で学習しておきましょう。

イカの解剖 (ハサミとピンセットの使い方) QR コード

https://youtu.be/G2CuKEpi_yc

パソコンでは上記です。



魚類の解剖と観察

目的 生物（魚類）の解剖を行い、体を構成する器官、組織について知るとともに、実験後の実験道具の処置についても実践することにより学ぶ。

準備 解剖器具（ピンセット、解剖ハサミ、眼科用ハサミ）、プラスチック製バット、ノギス、新聞紙、ビニール袋、大シャーレ、熱湯、

手順 1. 実験の流れ（アウトライン） 詳しい実験手法、観察の仕方は「手順 2. 解剖マニュアルと図譜」参照

1 外部形態の観察

- ① 頭部・胴部・尾部を確認する。ノギスによる各部の測定（最初にやろう）
- ② 頭部の感覚器官を調べる。
- ③ ひれを観察する。
- ④ 口を開閉し、あごの作り、歯を観察する。

2 口腔、咽頭、鰓の観察

- ① 左側面のえらぶた、顎骨、頬骨（ほおの骨）をきりとり、口腔・咽頭・鰓を完全に露出する。

3 鰓（えら）の観察

- ① 左側の鰓を4枚切り取る。

4 咽頭歯と食道開口の観察

5 内臓諸器官の観察

(1) 体腔

- ① 肛門からはさみを入れ、正中線上の筋壁（体腔をつつむ壁）を頭部直後まで切り、縦に切れ目を入れる。
- ② ピンセットで筋壁を摘みあげ、後方から筋壁を切り取り体腔を露出させる。

(2) 胸腔内の器官（循環器官系）

- ① 心臓を包む膜をはぎ、心臓を露出させる

(3) 腹腔内の器官（消化器官系を中心に）

- ① 生殖腺を切り取り、肝臓をめくり上げる。
- ② 食道・胃・腸・胆のう・幽門垂・脾臓・うきぶくろを露出させる。
- ③ 消化管を切り出し、大シャーレの水の中で引き伸ばす。

6 眼球の観察

- ① 眼球を切り出し、角膜・虹彩・瞳・視神経束を確認する。
- ② 眼球を前半部と後半部に切って割り、レンズ・ガラス体・網膜を確認する。
- ③ レンズを新聞紙の上において字を見る。

7 中枢神経（神経系）の観察

(1) 脳、頭蓋と脊柱

- ① 熱湯に2～3分漬ける。
- ② 内臓骨と筋肉をピンセットで剥ぎ取り、脳頭蓋と脊柱を露出させる。
- ③ 脳頭蓋と脊柱は流水で洗う。

(2) 脊髓と脊索

- ① 脊柱を手で壊し、その中にある脊髓と脊索を露出させる。

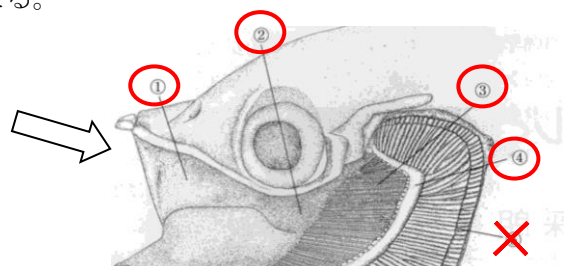
(3) 脳

- ① 脳頭蓋背面より脳の位置を確認する。
- ② 脳の背面を覆う骨をピンセットで剥ぎ取り、脳を露出させる。

(4) 内耳

- ① 脳頭蓋腹面より内耳（耳石）の位置を確認する。
- ② 内耳を覆う骨をピンセットで剥ぎ取り、内耳を露出させる。

確認できたものは図中の番号に赤で丸○をつける
確認できなかったものには図中の番号に赤で×をつける
思い切ってどんどん実験し確認を進めていく



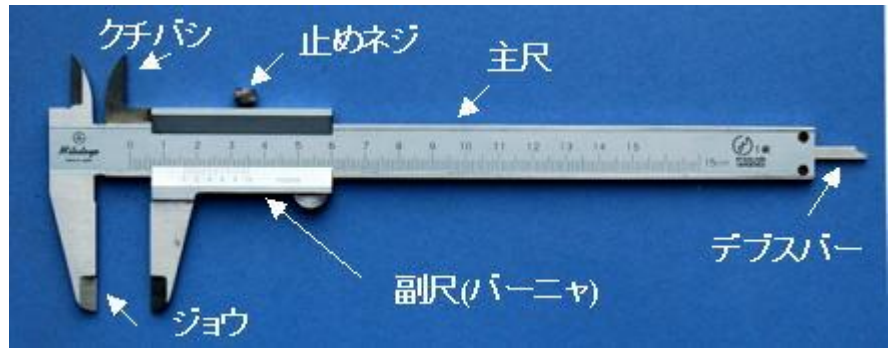
出典：生物の科学「遺伝」

ノギスによる測定

ノギスには本尺（主尺）と副尺があります。

本尺と副尺を合わせてみよう
メモリはどう違う？

この仕組みでどうして正確に測れるのか
考察してみよう（宿題）

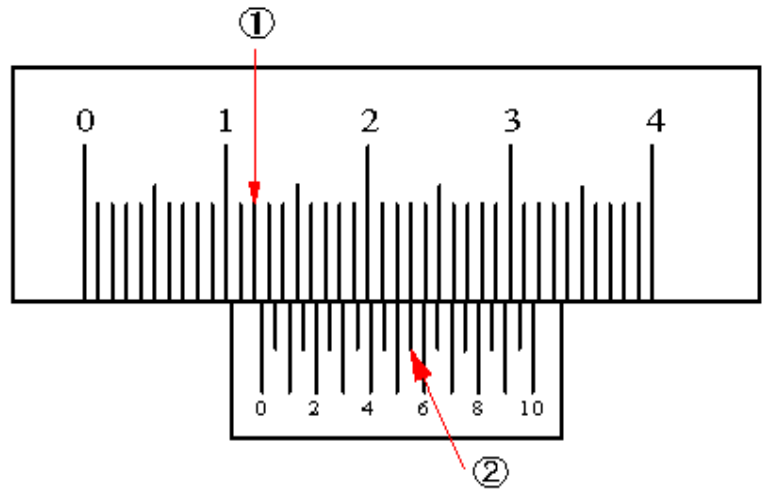


①副尺の0点が指す主尺の値を読む。

図の場合 12→12mm

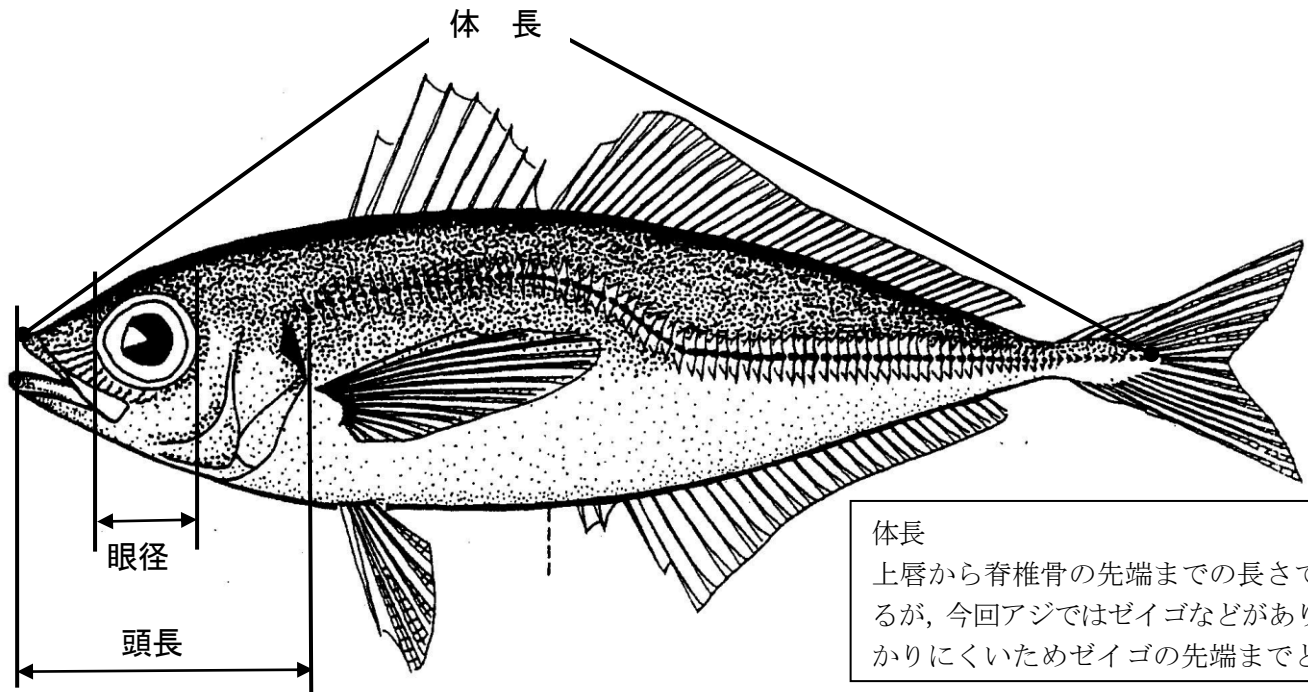
②次に、副尺と主尺の目盛りが一致する副尺の値
を読む。図では5.5の値。

この値が0.1mmの位の値に相当する。
測定値は、 $12 + 0.55 = 12.55\text{mm}$ となる。



アジの各部を測ろう

アジが大きすぎる場合体長は図らなくてよい



体長
上唇から脊椎骨の先端までの長さであるが、今回アジではゼイゴなどがありわかりにくいいためゼイゴの先端までとし

体高：腹鰭の付け根から体の背縁までの距離

体幅：左右の胸鰭の付け根の間の距離

体 長	体 高	体 幅	頭 長	眼 径

* 測定後ノギスと定規は解剖に入る前に返却

手順2. 解剖マニュアルと図譜

1 外部形態の観察

【解剖手順】

- a. 頭部・胴部・尾部（鰓蓋裂から前方が頭部，鰓蓋裂から肛門までの間が胴部，肛門から後方が尾部）を確認する。
- b. 次に，胸鰭と腹鰭を観察する。胸鰭は四足動物の前肢に，腹鰭は後肢にあたる。
- c. 最後に，口を開閉し，顎のつくりを調べる。

【観察】

尾部が大きく，頭部と胴部の境にくびれた首がない。鼻孔と眼球はあるが，外耳がない。前肢と後肢は鰭になる。上顎骨が頭蓋に接着していない。

2 口腔，咽頭，鰓の観察

【解剖手順】

- a. 口腔・咽頭・鰓：左側面の鰓蓋・顎骨・頬骨を切り取り，口腔・咽頭・鰓を完全に露出する。

【観察（図1）】

口腔の後方には，細長い咽頭が続く。咽頭側面には鰓が付着し，咽頭側壁を形成する。鰓は，鰓弓（骨格）と鰓弁（いわゆる鰓）よりなる。また，鰓弓から2列の突起（鰓耙＝咽頭内のプランクトンを効果的に食道開口に運ぶ役割をする）が，咽頭内に突出している。その中でも，いちばん外側の鰓弓から出る鰓耙は長大で目立つ。咽頭から流れ出た水は，鰓を洗い，鰓蓋裂から外に排出される。

3 鰓（えら）の観察 鰓断面の観察

【解剖手順】

- a. 鰓を横断し，断面を観察する。

【観察（図2）】

鰓断面からは2本の血管が覗く。赤血球は，楕円形で核がある。（血球の観察は省略）

4 咽頭歯と食道開口の観察

【解剖手順】

- a. 左側の鰓を4枚切り取り，咽頭の上壁と下壁を露出させ，咽頭歯と食道の開口を確認する。

【観察（図3）】

上壁には3対（6個），下壁には1対の咽頭歯がある。いずれの咽頭歯も大きく，表面がヤスリ状になっている。

5 内臓諸器官の観察

①体 腔

【解剖手順】

- a. 肛門からハサミを入れ，正中線上の筋壁（体腔を包む壁）を頭部直後まで切り，縦に切れ目を入れる。
- b. つぎに，ピンセットで筋壁を摘みあげ，後方から筋壁を切り取り，体腔を露出させる。

【観察】

体腔は，横中隔（横隔膜と相同）によって，胸腔と腹腔に仕切られている。

②胸腔内の器官

【解剖手順】

- a. 心臓を包む膜を剥ぎ，心臓を露出させる。
- b. つぎに，腹大動脈を前方にたどる。

【観察（図4）】

心臓は，静脈洞・心房・心室・動脈球からなる。心房は，壁が薄く破れやすい。心室は，壁が厚く破れにくい。腹

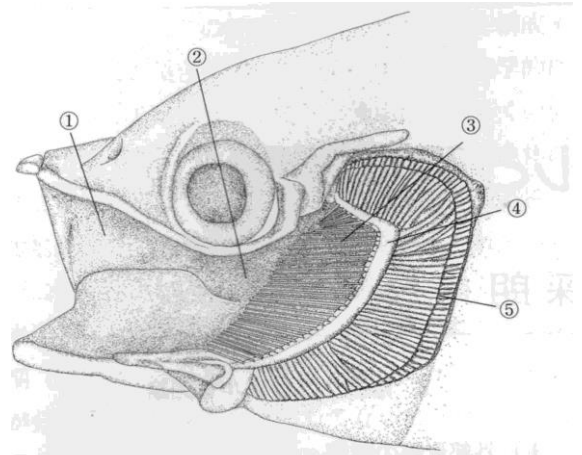


図1 口腔・咽頭・鰓の観察。①口腔，②咽頭，③鰓耙，④鰓弓，⑤鰓弁。 出典：生物の科学「遺伝」

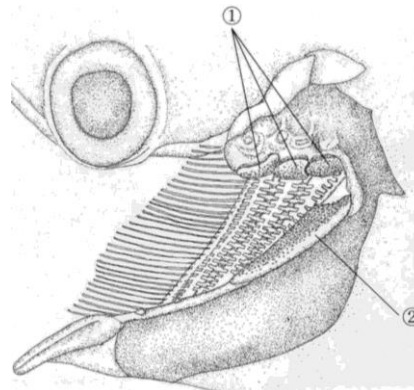
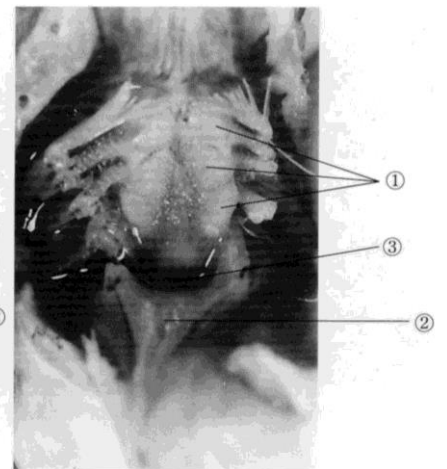


図3 咽頭歯と食道の開口部の観察。
①上咽頭歯，②下咽頭歯，③食道の開口。出典：生物の科学「遺伝」



大動脈は鰓につながる。血液は、静脈洞→心房→心室→動脈球→腹大動脈→鰓と流れる。

(注) 静脈洞は横中壁に付着しているのので、横中壁を動かして確認する。

③腹腔内の器官

【解剖手順】

- 前方を肝臓が、後方を生殖腺が広く覆っている。そこで、生殖腺を切り取り、肝臓をめくりあげ、食道・胃・腸・胆のう・幽門垂・脾臓・うきぶくろを露出させる。食道から胃へのつながりをピンセットを入れて確認する。
- 次に、消化管を切りだして、シャーレの水の中で引き伸ばし、食道→胃→腸→肛門と食物の流れをたどる。
- 最後に、うきぶくろを取り除き、脊柱腹面にある背大動脈・後主静脈・腎臓を露出させる。背大動脈と後主静脈は、前方にたどる。

【観察 (図5~7)】

食道と胃の境は不明確である。胃は Y (ト) 字型で、幽門部に幽門垂が付着している。胆のうは淡緑色で棒状の袋、脾臓は暗赤色で扁平、うきぶくろは白色の巨大な袋である (図5, 6)。

後主静脈は、暗赤色の血液を多量に残し、前方で心臓につながる。壁が薄く切れやすい。背大動脈は、明赤色の血液を少量残し、前方で鰓につながる。壁が厚く切れにくい (図7)。

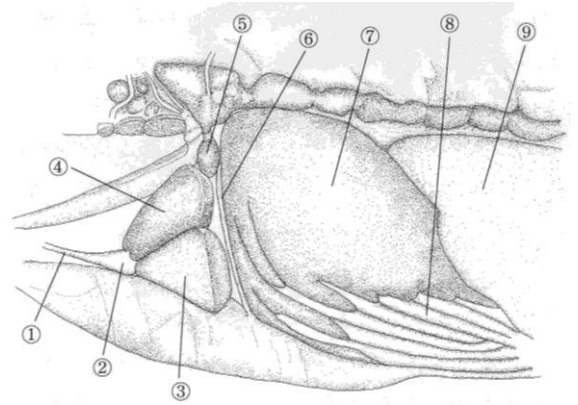


図4 胸腔内の器官の観察。①腹大動脈、②動脈球、③心室、④心房、⑤静脈洞、⑥横中壁、⑦肝臓、⑧幽門垂、⑨生殖腺。

出典：生物の科学「遺伝」

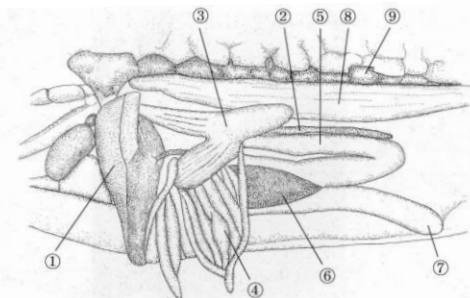


図5 腹腔内の器官の観察 (腹を開いたところ)。①肝臓、②胆のう、③胃、④幽門垂、⑤腸、⑥脾臓、⑦肛門、⑧うきぶくろ、⑨腎臓。



出典：生物の科学「遺伝」

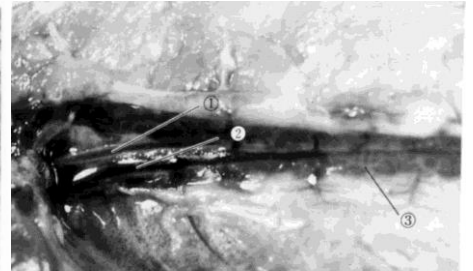


図7 腹腔内の器官の観察 (血管と腎臓)。①背大動脈、②後主静脈、③腎臓。

出典：生物の科学「遺伝」

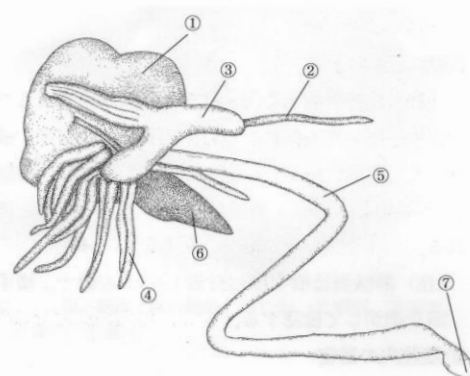


図6 腹腔内の器官の観察 (腹から取りだしたところ)。①肝臓、②胆のう、③胃、④幽門垂、⑤腸、⑥脾臓、⑦肛門。



出典：生物の科学「遺伝」

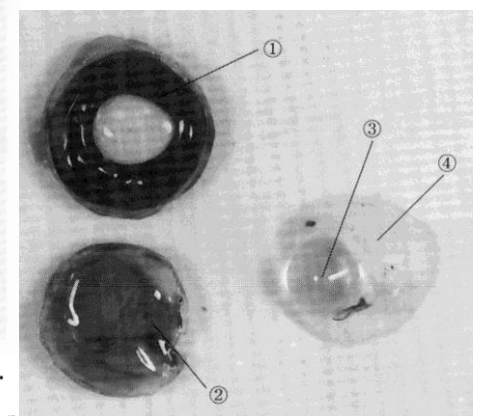


図8 眼球の観察。①虹彩、②網膜、③レンズ、④ガラス体。

出典：生物の科学「遺伝」

6 眼球の観察

【解剖手順】

- 眼球を切りだし、角膜・虹彩・瞳・視神経束を確認する。
- つぎに、眼球を前半部と後半部に切って割り、レンズ・ガラス体・網膜を確認する。
- 最後に、レンズを新聞紙の上に置き、レンズが光を結ぶはたらきがあることを確認する。

【観察 (図8)】

ほ乳類の眼球と基本的なしくみは同じ。ただし、レンズは球形で弾力性がない。

7 中枢神経（神経系）の観察（今回は①、③を観察）

①脳頭蓋と脊柱

【解剖手順】

- 熱湯に2～3分浸ける。（今回は頭部だけ切り取り浸ける）
- つぎに、内臓骨と筋肉をピンセットで剥ぎ取り、脳頭蓋と脊柱を露出させる。
- 最後に、脳頭蓋と脊柱を流水でていねいに洗う。（きれいに肉が除去できれば洗わなくてよい）

【観察】

脳頭蓋背面から脳が、脳頭蓋側面から内耳が、脊柱側面から脊髓が透けて見える。

（注）熱湯に浸けると、脳頭蓋・脊柱から内臓骨や筋肉が剥がれやすくなると共に、脳頭蓋・脊柱が壊れやすくなる。また、脳・脊髓が締まるなどの変化が起きる。

②脊髓と脊索（今回は省略）

【解剖手順】

- 脊柱は、椎骨が連結してできている。脊柱を手で壊し、その中にある脊髓と脊索を露出させる。
- つぎに、脊索をピンセットでつまみ、弾力性を体感する。

【観察（図9）】

脊髓は白色・棒状で、脊柱の中を貫通する。透明で弾力性がある脊索は、椎骨の連結部に残っている。

③脳

【解剖手順】

- 脳頭蓋背面より脳の位置を確認する。
- つぎに、脳の背面を覆う骨をピンセットで剥ぎ取り、脳を露出させる。なお、腹面の頭蓋骨は残しておく。

【観察（図10）】

背面からは、大脳・中脳・小脳・延髄が確認できる。中脳が発達しているため、全体の形は球形をしている。

（注）脳は柔らかいので、脳頭蓋にハサミを入れるのは避ける～。もし、脳頭蓋が壊れにくいなら、再び熱湯につける。

④内耳（今回は省略）

【解剖手順】

- 脳頭蓋腹面より内耳（耳石）の位置を確認する。
- つぎに、内耳を覆う骨をピンセットで剥ぎ取り、内耳を露出する。

【観察（図11）】

内耳は、球形嚢と卵形嚢の二つの葉状構造物よりなる。球形嚢の大半を耳石が占める。卵形嚢からは、半規管が出ている。内耳は壊れやすく、耳石しか観察できないこともある。

* 後片付けの仕方

- 魚体、内臓、その他生物体は全てバットを包んでいるビニールを裏返して中に収納する。
生物体が付着したハサミは新聞紙でぬぐう。新聞紙もビニール袋の中に入れる。
空気を抜いて出来るだけコンパクトにする。
- 解剖ハサミ、眼科用ハサミ、ピンセットは洗剤とスポンジできれいに洗う。（鱗がついていないように）乾燥機で乾燥させる。
- バット、シャーレも洗剤とスポンジできれいに洗う。逆さにして水を切り乾燥させる。

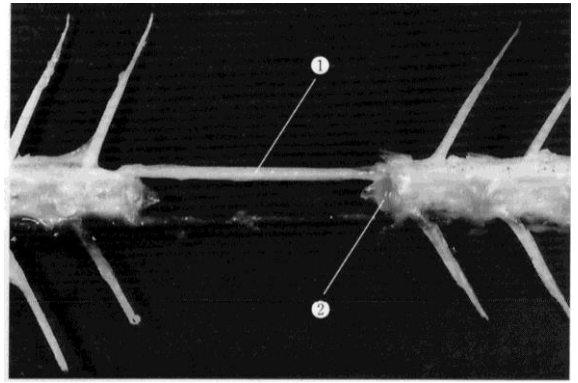


図9 脊髓と脊索の観察。① 脊髓，② 脊索。

出典：生物の科学「遺伝」

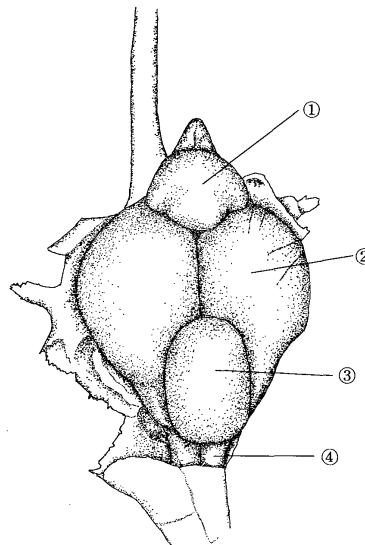


図10 脳の観察。① 大脳，② 中脳，③ 小脳，④ 延髄。

出典：生物の科学「遺伝」

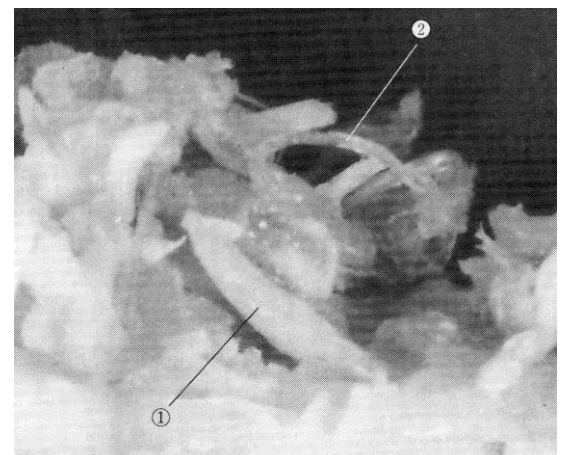
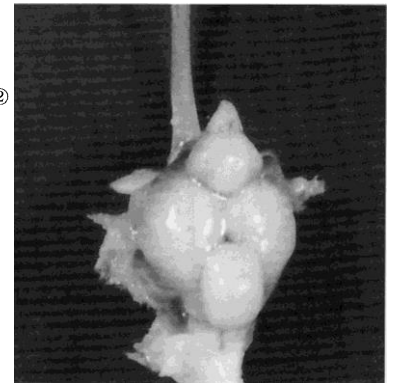


図11 内耳の観察。① 耳石，② 半規管。

出典：生物の科学「遺伝」

実験後のアンケートと感想

アンケート 実験を終えてすぐ、必ず提出してください 該当するものに○を付けてください。

	3回以上	2回	1回	0回			
I アジの解剖の動画をネット (YouTube) で見た (見た回数)	3回以上	2回	1回	0回			
II イカの解剖の動画をネット (YouTube) で見た (見た回数)	3回以上	2回	1回	0回			
			ある	ない			
III ネット検索して、動物の解剖 (魚類以外でも可) について調べた (動画・図・解説等)	2	—	—	1			
IV 書籍 (何でも良い) で、動物の解剖 (魚類以外でも可) について調べた	2	—	—	1			
A 魚類を解剖したことがある。	2	—	—	1			
B 魚類以外の生き物を解剖したことがある。	2	—	—	1			
(動物名)							
C 生魚を料理したことがある。	2	—	—	1			
(魚の名前)							
			大変良く当てはまる 大変良くできた	当てはまらない できなかった			
1 魚類の外形についての知識・理解が深まった。	4	—	3	—	2	—	1
2 魚類の器官 (消化管など) についての知識・理解が深まった。	4	—	3	—	2	—	1
3 魚類の組織 (筋肉組織など) についての知識・理解が深まった。	4	—	3	—	2	—	1
4 動物の視覚器 (目) についての知識・理解が深まった。	4	—	3	—	2	—	1
5 魚類の中樞神経 (脳など) についての知識・理解が深まった。	4	—	3	—	2	—	1
6 解剖の手順が実験書の文章で理解できた。	4	—	3	—	2	—	1
7 解剖の仕方が実験書の写真・図で理解できた。	4	—	3	—	2	—	1
8 解剖器具 (ハサミなど) を目的に合わせて使用することができた。	4	—	3	—	2	—	1
9 器官を手や器具などを使って分離することができた。	4	—	3	—	2	—	1
10 動物の構造や器官に興味・関心が強まった。	4	—	3	—	2	—	1
11 解剖の進行に「アジの解剖」の動画が役に立った (見た人のみ回答)	4	—	3	—	2	—	1
12 解剖の進行に「イカの解剖」の動画が役に立った (見た人のみ回答)	4	—	3	—	2	—	1

感想 解剖実験で印象に残ったことを書いてください。

年 組 番 氏名

サイエンス入門 評価・振り返りシート

月 日 1年9組 番 氏名

◎本時の実験・実習項目 ※簡単に内容を書く		
◎本時の自己評価	自己評価 (○をつける)	
⑩ 本時の内容に興味・意欲を持って取り組み、積極的に参加したか。	A	B C
⑪ 本時の内容をよく理解できたか。	A	B C
⑫ 資料の整理や記入等手際よく行うことができたか。	A	B C
◎本時を振り返って (自由記述) *気がついたこと・調べたこと・今後の展望・感想・反省・疑問などを具体的に書く。		

アミラーゼの最適温度と反応速度その考察

目的 アミラーゼの最適温度と反応速度を考察する 各班 (3人または2人 5班)

準備 各班 リン酸緩衝溶液 (pH7.5) 1本 (6mL) 0.08%デンプン水溶液 1本 (6mL)

ヨウ素ヨウ化カリウム溶液 1本

グルコアミラーゼ 1本 (60 µL) (氷冷する) 酵素 4.5 U/mg を 1mL に 20mg 溶解している

マイクロピペッター 5本 1000~5000 µL 1本 100~1000 µL 2本 10~100 µL 2本

特大チップ (洗浄して再利用する) ブルーチップ, イエローチップ (再利用しない)

金属製試験管立て 試験管 6本 × 2 滅菌チューブ 2本 木製試験管立て 1個 チップ廃棄ゴミ箱 1個

練習用水入りマイクロチューブ 2 100ml ビーカー 1個 (水入り)

ポルテックスミキサー 氷冷用容器 (発泡スチロール) 砕氷入り 1個 ストップウォッチ 2個

- 方法1**
1. 氷上にすべての試験管と試験管と溶液の入ったチューブを刺し氷冷する。
 2. 滅菌チューブにリン酸緩衝溶液を 3mL (白 3.00), デンプン溶液を 3mL (白 3.00) 入れて混合する。
 3. ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を 300 µL (青 300) 加える。軽く攪拌し氷冷。
 4. 十分氷冷してから, グルコアミラーゼを 38 µL (黄 38) 加える。
 5. 軽く攪拌し氷冷した試験管に 1mL (1000 µL) (青 1000) ずつ分注する。
 6. 指定された温度のホットバスに 6本同時に入れる。
 7. 決められた時間ごとに 1本ずつホットバスから取り出しすぐに氷冷する。色が消えなければ最後の 1本は消えるまでホットバスにつけておきヨウ素デンプン反応がなくなるまでの時間を計る。
 8. 十分氷冷 (2分以上) できたら, 木製試験管立てにたてヨウ素デンプン反応の有無を観察する。
 9. 結果を黒板に記入 (黒板には反応温度, 酵素濃度, ヨウ素デンプン反応が消えた時間だけを記入)。

- 方法2**
- 1~3. 方法1と同じ (同時に準備し実験する)
 4. 十分氷冷してから, グルコアミラーゼを 19 µL (黄 19) 加える。
 - 5~9. 方法1と同じ

反応温度と測定の時間		方法1	方法2 (1と酵素濃度を変えている)
	ホットバス	1ml あたり酵素 () µL	1ml あたり酵素 () µL
1班	70°C	5秒ごと取り出し氷冷	70°C 7秒ごと取り出し氷冷
2	60°C	7秒ごと取り出し氷冷	60°C 10秒ごと取り出し氷冷
3	50°C	20秒ごと取り出し氷冷	50°C 40秒ごと取り出し氷冷
4	40°C	45秒ごと取り出し氷冷	40°C 90秒ごと取り出し氷冷
5	35°C	3分ごと取り出し氷冷	35°C 6分ごと取り出し氷冷

反応液 1mL あたりの溶液組成	リン酸緩衝溶液	() mL = () µL
	0.08%デンプン水溶液	() mL = () µL
	ヨウ素ヨウ化カリウム溶液	() µL
	酵素 (グルコアミラーゼ)	() µL
	酵素濃度	方法1 () U/mL 方法2 () U/mL

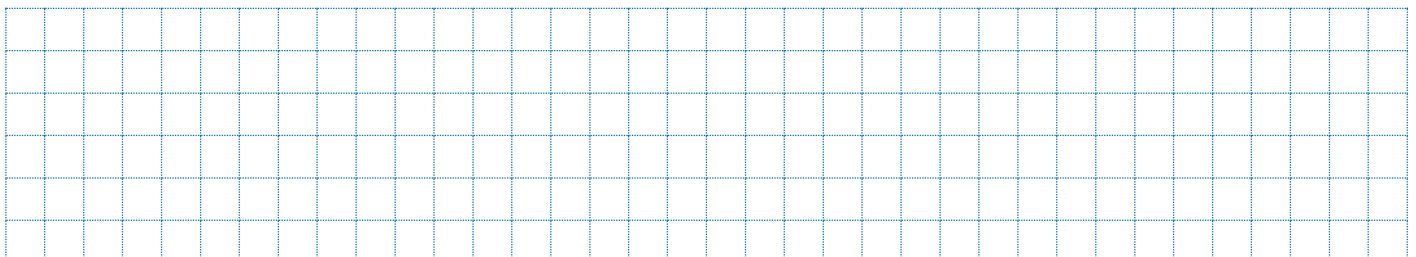
考察 グラフを作成する。ヨウ素デンプン反応の消失に要した時間と反応させた温度の関係をグラフ化せよ。

注) グラフの軸と点の取り方に注意すること 今回の各班の結果とそのまとめた表は Lob note に記入

①グルコアミラーゼの最適温度について考察せよ。 ②酵素濃度と反応速度の関係について考察せよ。

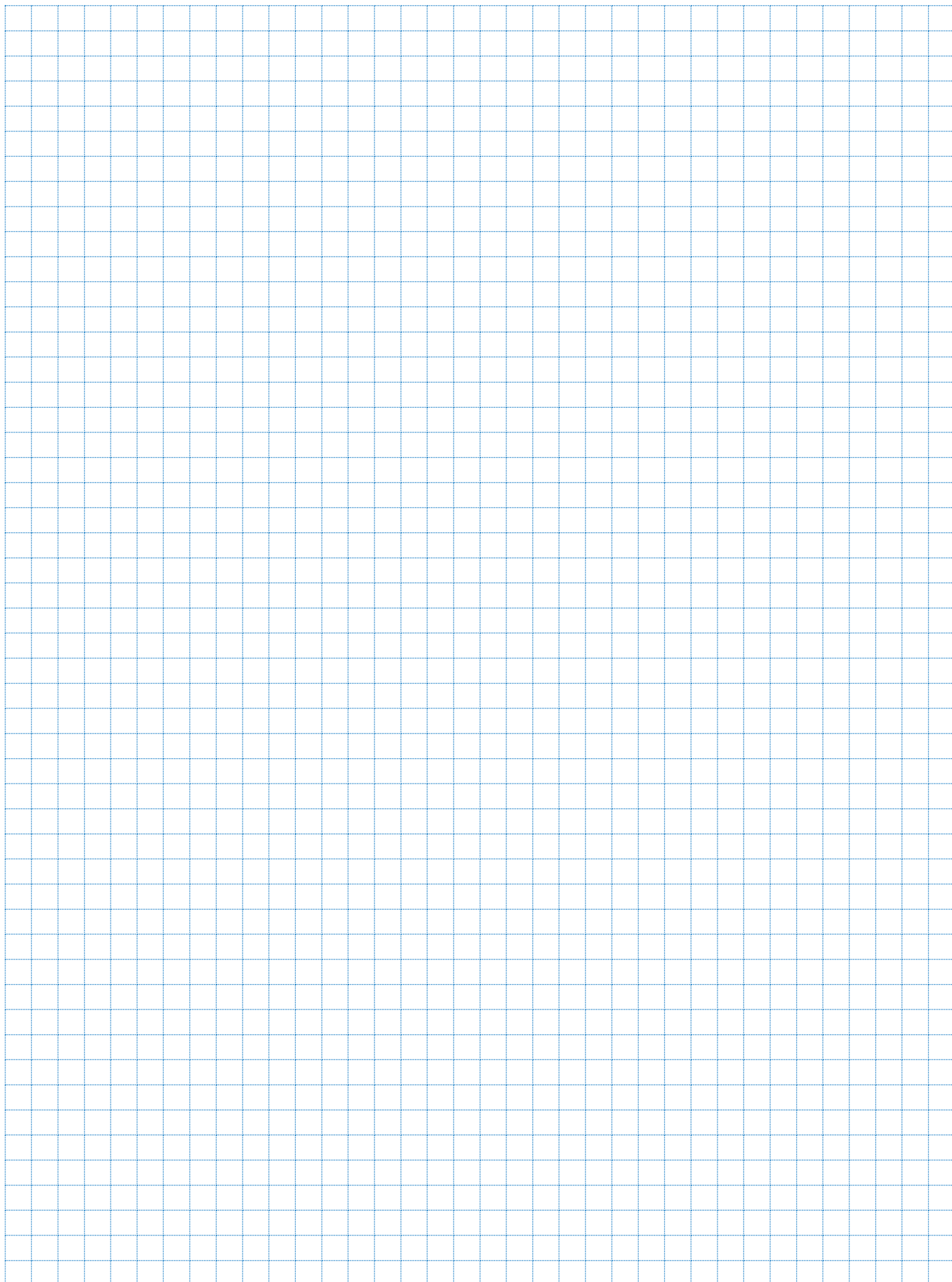
◎ヨウ素によるデンプン発色の機構とアミラーゼのはたらきについて

グルコアミラーゼはデンプンをグルコース単位に切断する



今回は各班の結果を文章や図を用いて、グラフを書くための各班の結果をまとめた表も Lab note に記入。
グラフを貼り付け、考察①、②について記載する。（グラフはスペースがなければ折り込んで張ってもよい）

Lab note



サイエンス入門 評価・振り返りシート

月 日 1年9組 番 氏名

◎本時の実験・実習項目 ※簡単に内容を書く	
◎本時の自己評価	自己評価 (○をつける)
⑬ 本時の内容に興味・意欲を持って取り組み、積極的に参加したか。	A B C
⑭ 本時の内容をよく理解できたか。	A B C
⑮ 資料の整理や記入等手際よく行うことができたか。	A B C
◎本時を振り返って (自由記述) *気がついたこと・調べたこと・今後の展望・感想・反省・疑問などを具体的に書く。	

遺伝子を理解する分子生物学実験

DNA フィンガープリント(発展編)

目的 プラスミドDNAを制限酵素で切断し、電気泳動によりその解析を行うことで、遺伝子の本体であるDNAの理解と写真と対数グラフを用いたDNA断片の大きさの計測の仕方(測り方)を学習する。

準備 プラスミドDNA(pUC19・phoN) を制限酵素(*Afa* I *Eco*R I) で切断したもの。

Loading buffer(青色) 100bpLadder(緑色) 1.7%アガロースゲル

1×TBE(電気泳動用バッファー)

ボルテックスミキサー 遠心分離器 電気泳動槽 簡易トランスイルミネーター 撮影用カメラ

マイクロピペッター チップ 手袋 ゴミ入れ

19A プラスミドDNA pUC19を制限酵素 *Afa* I で切断したもの(10 μLが小さなチューブに入っている)

19E プラスミドDNA pUC19を制限酵素 *Eco*R I で切断したもの (10 μLが小さなチューブに入っている)

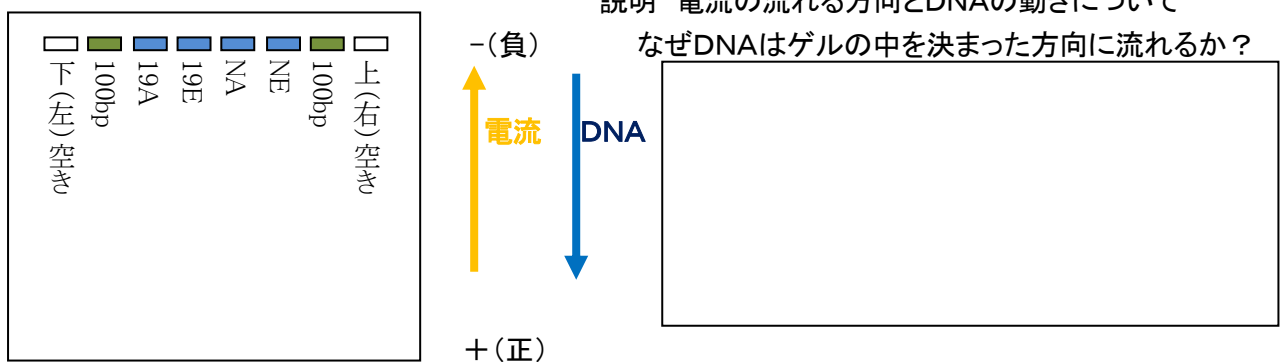
NA プラスミドDNA phoNを制限酵素 *Afa* I で切断したもの(10 μLが小さなチューブに入っている)

NE プラスミドDNA phoNを制限酵素 *Eco*R I で切断したもの (10 μLが小さなチューブに入っている)

実験

- 1 それぞれ10 μLのDNA溶液が入ったチューブに5 μLのLoading buffer(青色色素)を入れる。
- 2 軽くタッピングして攪拌する。
- 3 遠心器でDNAの入った青色溶液をチューブの底に落とす。
- 4 計15 μLをマイクロピペッターで吸い取る。

(プラスミドDNAを制限酵素で切ったもの10 μL+Loading buffer5 μL)



注) 青色は、DNAの色ではありません。DNA溶液は透明です。

青色色素はDNAがどこまで流れたか透明で見えないので、目印のためにDNAに混ぜている色素です。

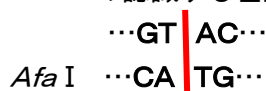
- 5 1.7%アガロースゲルのウェル(ゲルの穴)にゆっくり流し込む。(ゲルを壊さぬように慎重に入れること)
- 6 100bpLadder(緑色) を5 μLずつ2カ所に入れる。
- 7 ふたを閉めて電源を入れる。泳動槽を揺らしたりしない。(電流の方向確認する)

約30分~40分間泳動

解説 プラスミドとは

制限酵素とは

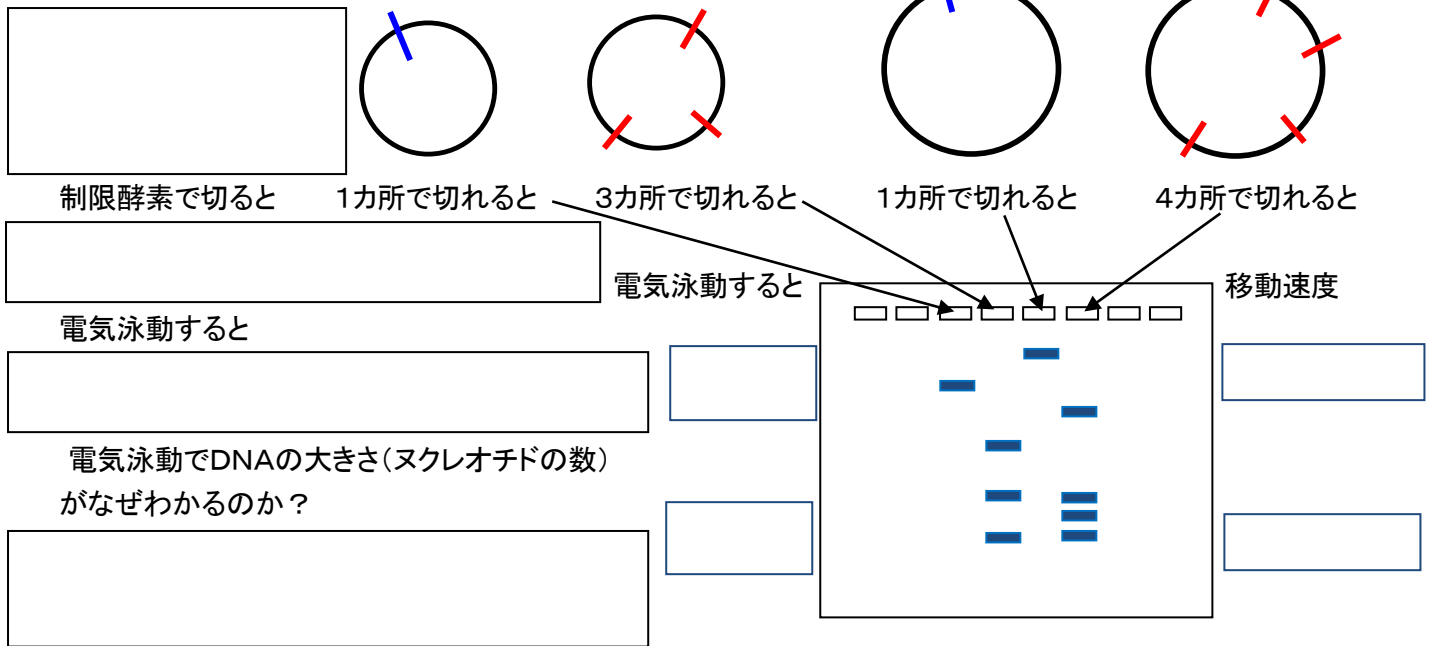
制限酵素*Afa* I *Eco*R I の認識する塩基配列(AGTC)は?



塩基配列(AGTCの並び方)が異なる遺伝子DNAでは、切れ方が異なる。→指紋(フィンガープリント)

Afa I と*Eco*R I でどちらがDNAを切断しやすいだろうか?

大きさの違う2種類のプラスミドDNA

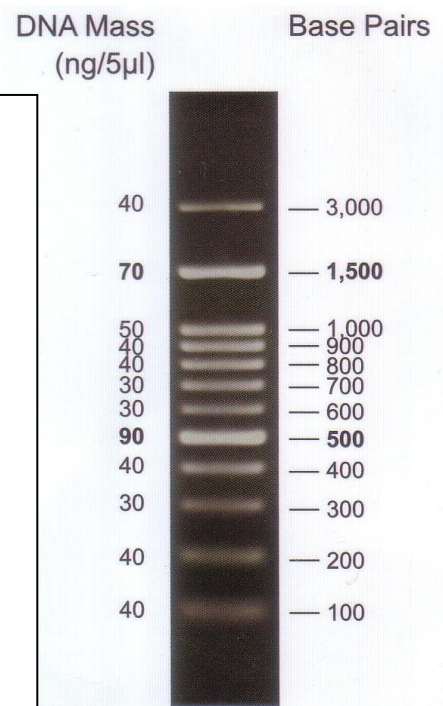


実験

- 電気泳動を終了しゲルを、サランラップを敷いたトランスイルミネーター(LEDライトか紫外線)上に運ぶ。
危険はないが必ず手袋使用 紫外線を使う場合紫外線防御用安全メガネ着用
- 写真撮影(白黒モードでデジカメで撮影) 印刷(プリンター)
携帯・スマートフォンでも撮影可能

写真の解析

- それぞれのプラスミドDNAは何カ所で切断されたか?
 プラスミドDNA名() 制限酵素名() _____カ所で切断された
 () _____カ所で切断された
 プラスミドDNA名() 制限酵素名() _____カ所で切断された
 () _____カ所で切断された
- DNA断片の長さ(何bp)をLadderと比較して推察する。
- プラスミドDNA(輪っか)は何bpか? 予想してみよう。



1.5% TAE agarose gel

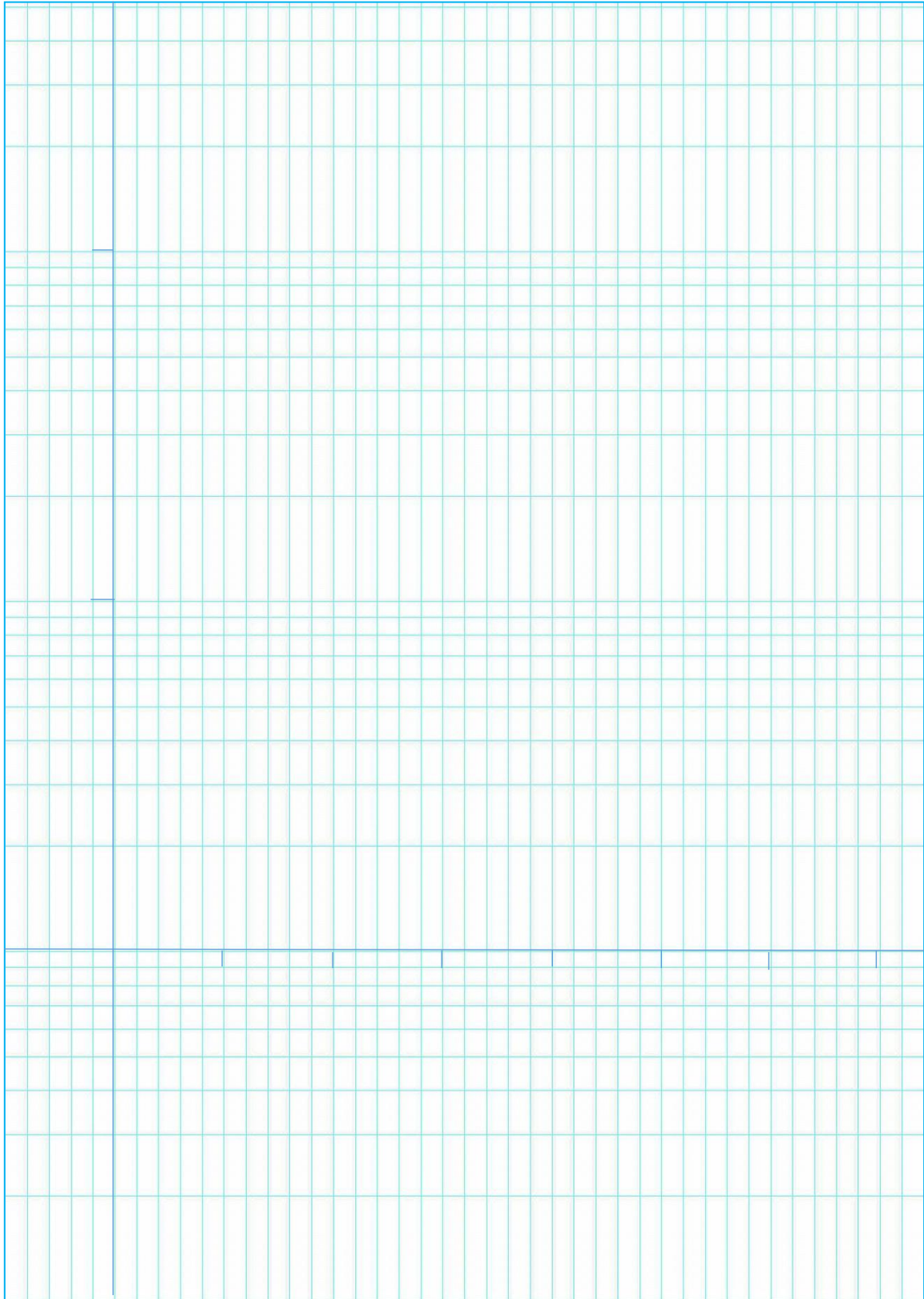
電気泳動写真を貼り付ける。
 必要事項を記入しよう
 実験した日
 どのウェル(ゲルの穴)に何をいれたか。
 DNA名 使った酵素名 入れた量(µl)など
 100bpLadder とその量など
 アガロースゲルの濃度と電気泳動用バッファの種類
 予想されるバンドの長さ などを書こう

復習1: 目に見えないくらい小さい遺伝子DNA→同じものをたくさん集めて見れば見ることができる。

復習2: DNAの大きさを測るには→あらかじめ大きさのわかっているDNAを同じ条件で泳動し比べて測る。

練習用 100bpLadder の資料をプロットせよ

ラダーの各バンドの大きさを縦軸に 3000bp を基準(0mm)と, 3000bpからの各バンドまでの距離を横軸にとる



個人の写真解析用

最初に写真の 100bpLadder をグラフ化する。

作成したグラフ上に写真のプラスミド断片のデータをプロット、各断片が何 bp か求める。

